

饲料 Vc 对异育银鲫的生理效应及其适宜添加量

宋学宏, 蔡春芳, 赵林川, 潘新法, 吴康, 张建

(苏州大学 农业科学与技术学院, 江苏 苏州 215006)

摘要: 在精制饲料中分别添加不同剂量 Vc(0, 37.5, 75, 150, 300, 600 和 1 200 mg/kg), 连续投喂异育银鲫(方正银鲫 × 兴国红鲤) (*Carassius auratus gibelio*) 8 周。结果显示, 当饲料中缺乏 Vc 时异育银鲫虽没有出现明显的缺乏症状, 但日增重率、血红蛋白含量和血清 POD 酶活性均低于 Vc 添加组, 而红细胞脆性极显著地高于高剂量 Vc 添加组 ($P < 0.01$); 同时, 经新复极差检验, 在适宜范围内随着饲料 Vc 含量增加, 异育银鲫日增重率、血红蛋白含量、POD 活性等指标显著提高, 而红细胞脆性明显下降 ($P < 0.05$)。综合以上指标的非线性回归分析结果, 建议生产上异育银鲫饲料 Vc 适宜添加量为 300 ~ 500 mg/kg。

关键词: 异育银鲫; Vc; 生理效应; 适宜添加量

中图分类号: S963.731 **文献标识码:** A

文章编号: 1005 - 8737(2002)04 - 0359 - 04

在机体内自由基产生和清除的平衡过程中, Vc 作为天然的自由基清除剂可以直接或间接清除自由基, 从而可保护生物膜免遭过氧化物的损伤^[1]。许多研究表明, 多数鱼类体内不能或很少合成 Vc, 因而其生存与生长所需的 Vc 主要来源于饲料^[2-3], 因此在饲料中添加 Vc, 提高鱼体整体抗病能力已为越来越多的研究者及生产者所重视。国内外有关鱼类对饲料 Vc 适宜含量的研究报道较少, 黄忠志等以肝脏中维生素最大蓄积量为评定指标认为草鱼饲料中 Vc 适宜质量比为 600 mg/kg^[2]。Sealey^[4]与 Aguirre^[5]根据杂种条纹狼鲈与红拟石首鱼的鱼体增重率判定鱼对饲料中 Vc 的最低需要量。本研究首次以异育银鲫为实验对象, 利用日增重率、血红蛋白含量、红细胞脆性、POD 酶活性等生长及生理指标综合评定异育银鲫饲料中 Vc 需要量, 旨为生产上提供更客观、更合理的 Vc 添加量。

1 材料与方法

1.1 实验用精制饲料

收稿日期: 2002 - 03 - 27。

资助项目: 苏州大学青年教师基金资助(Q3114810); 苏州市农业科技发展基金资助(SNZ-0117)。

作者简介: 宋学宏(1963 -), 女, 讲师, 主要从事水产动物营养与疾病防治的教学和研究。

根据 Lovell 的配方^[2]改进配制精制饲料(干酪素 32%、明胶 8%、糊精 28%、纤维素 19%、羧甲基纤维素钠 2%、精制豆油 3%、鱼肝油 3%、混合无机盐 4%、混合维生素 1%)。其各种组分(分析纯)购于上海生化试剂公司。制成的基础精制饲料营养成分分别为: 粗蛋白 33.32%、粗脂肪 5.86%、灰分 6.53%、水分 11.30%。在基础饲料中添加 Vc - 多聚磷酸酯(Vc 质量分数为 9.4%, 由北京营养源研究所提供), 制成含 Vc 分别为 0, 37.5, 75, 150, 300, 600, 1 200 mg/kg 的 7 组异育银鲫适口饲料, 风干, 4 保存备用。

1.2 异育银鲫的来源与处理

实验用异育银鲫鱼种由苏州大学水产养殖实习基地提供, 体重 41 ~ 43 g, 在 50 cm × 60 cm × 100 cm 的水族箱中用普通鱼用颗粒饲料 25 下驯养 2 周。实验时随机将鱼分配到 21 个水族箱中, 15 尾/箱。将 7 个处理的饲料(每处理设 3 个重复)随机分配给每箱鱼。日投喂量为体重的 3%, 连续喂养 8 周。水源为曝气去氯自来水, 实验期间, 水体箱内过滤循环并充气增氧, 溶氧为 (6 ± 0.5) mg/L, 每天吸污并换水约 1/3, 氨氮 (0.06 ± 0.01) mg/L, 水温 (25 ± 1) °C, 每隔 2 周调整其投饲率。

1.3 血红蛋白量及红细胞脆性的测定

自尾静脉取血测定血红蛋白质量浓度及红细胞

脆性。血红蛋白采用血红蛋白试剂盒在 732 型分光光度计上于 540 nm 波长处比色测定,试剂盒购于上海伊华医学科技有限公司;红细胞脆性参照解景田等^[6]方法进行测定。

1.4 过氧化物酶(POD)活力测定

按 Worthington 法^[7]测定。POD 活力(U/mL) = (E₅₁₀ ×3) / (6.58 ×0.1)。

1.5 数据处理

对所有实验数据经方差分析后进行邓肯氏新复极差检验,并对日增重率、血红蛋白含量、红细胞脆性、POD 活性等生长及血液生理指标的数据进行非线性回归分析,求出异育银鲫对饲料 Vc 的适宜添加量。

2 结果与分析

2.1 Vc 对日增重率及 POD 活性的作用

饲养 8 周后,各实验组异育银鲫的成活率均为 100%。测定结果显示,不加 Vc 的实验组异育银鲫的日增重率极显著地低于 Vc 质量比为 75 ~ 600 mg/kg 的实验组。随着饲料中 Vc 质量比的增加,使异育银鲫的日增重率显著提高(经新复极差检验, P < 0.01)(表 1),经鱼体增重非线性回归分析,饲料 Vc 的最适质量比为 213.33 mg/kg (图 1)。同时,经过测定发现 POD 活性也随着饲料 Vc 的增加而极显著的增加,经非线性回归分析得饲料 Vc 的最

适质量比为 231.17 mg/kg (图 2)。

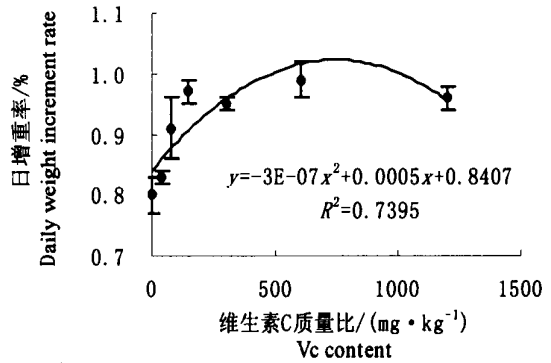


图 1 饲料 Vc 对日增重率的影响

Fig. 1 Effects of dietary Vc level on daily weight increment rate

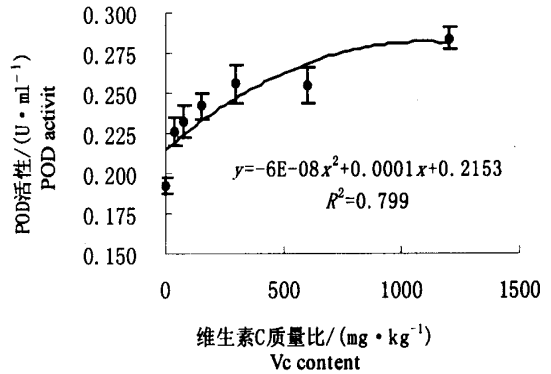


图 2 饲料 Vc 对血浆 POD 活性的影响

Fig. 2 Effects of dietary Vc on serum POD activities

表 1 饲料 Vc 含量对异育银鲫日增重率、血清 POD 活性、血红蛋白含量及红细胞脆性的影响

Table 1 Effects of dietary Vc on daily weight increase rate, serum POD activity, Hb concentration and osmotic hemocytolysis in Carassius auratus gibelio

Vc 质量比/ (mg · kg ⁻¹) Vc content	始重/g Original weight	末重/g Final weight	日增重率/% Daily weight increment rate	POD 活性/ (U · mL ⁻¹) POD Activity	血红蛋白 质量浓度 (g · L ⁻¹) Hb content	红细胞脆性 Osmotic hemocytolysis	
						最大脆性/NaCl % Maximum osmotic hemocytolysis	最小脆性/NaCl % Minimum osmotic hemocytolysis
0	41.8 ±0.2	60.5 ±0.5	0.80 ±0.003c	0.193 ±0.005c	81.01 ±0.94b	0.4167 ±0.014A	0.5333 ±0.009A
37.5	40.9 ±0.3	59.9 ±0.6	0.83 ±0.01bc	0.226 ±0.009c	82.12 ±1.63b	0.3833 ±0.014ab	0.5167 ±0.013ab
75	43.1 ±0.1	65.1 ±0.2	0.91 ±0.05abc	0.233 ±0.010bc	88.52 ±3.57A	0.4000 ±0.025a	0.5083 ±0.014ab
150	42.7 ±0.4	65.9 ±0.3	0.97 ±0.02ab	0.242 ±0.008b	89.91 ±4.63a	0.4000 ±0.000a	0.5000 ±0.012b
300	41.8 ±0.1	64.0 ±0.5	0.95 ±0.01A	0.256 ±0.012ab	90.67 ±2.48A	0.3233 ±0.011c	0.4938 ±0.013bc
600	43.1 ±0.2	67.1 ±0.4	0.99 ±0.03A	0.255 ±0.011ab	87.76 ±1.90a	0.3583 ±0.014ab	0.4500 ±0.011d
1200	41.8 ±0.2	64.3 ±0.3	0.96 ±0.02A	0.284 ±0.007A	85.30 ±1.84b	0.3500 ±0.025b	0.4583 ±0.014cd

注:小写英文字母表示 = 0.05 显著水平,大写英文字母表示 = 0.01 显著水平。

Note: The small letters mean the significant level = 0.05, while the capital letters mean the significant level = 0.01.

2.2 Vc 对血红蛋白含量及脆性的作用

异育银鲫的血红蛋白含量及红细胞脆性在实验

组之间存在差异(表 1),血红蛋白含量随着饲料 Vc 质量比的增加而极显著地增高(P < 0.01),经非线

性回归分析,饲料Vc与血红蛋白的相关系数为0.4537,说明其相关性不是很大(图3)。同时,综合红细胞最大脆性与最小脆性可见,高剂量组(300~1200 mg/kg)的红细胞脆性极显著地小于对照组及低剂量组(37.5 mg/kg) ($P < 0.01$),经非线性回归分析,饲料Vc适宜添加量分别为506.5 mg/kg(最小脆性),饲料Vc含量与血细胞最大脆性的相关系数为0.5982,证明其相关性也不很大(图4)。

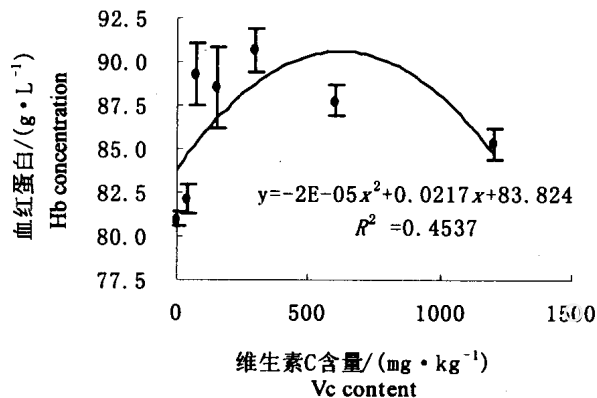


图3 Vc对血红蛋白质量浓度的影响

Fig.3 Effect of dietary Vc on Hb concentration

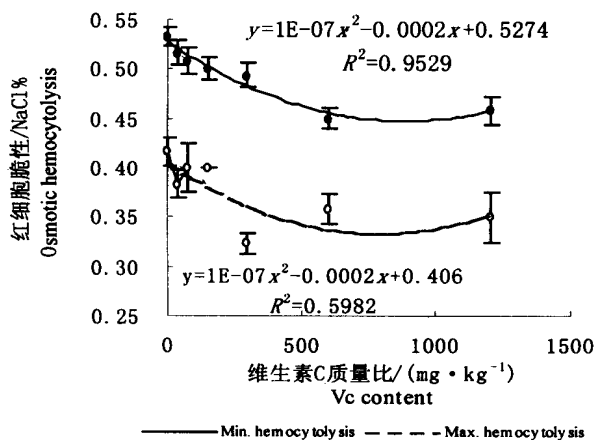


图4 Vc对红细胞脆性的影响

Fig.4 Effect of dietary Vc on osmotic hemocytolysis

3 讨论

3.1 饲料Vc对异育银鲫血液生理的影响

鱼类血红蛋白含量及红细胞脆性是很重要的血液生理指标,它们随鱼的种类、年龄、性别、性周期、营养及健康状况、季节变化以及鱼类本身的活动性等因素有所变化。Vc是一种具有广泛生理功能的

营养素,对鱼类的血液学指标具有明显的作用,Lim等^[8]发现,饲料中高剂量Vc对大西洋鲑血细胞总数(TCC)、血红细胞数(RBC)、血细胞比容(HCT)和血红蛋白(Hb)等指标具有明显的增强作用。本研究发现,异育银鲫饲养8周后,饲料Vc缺乏组的鱼虽然其体表未出现明显的Vc缺乏症状,仅有少数鱼出现轻微出血现象,但其血红蛋白含量低、红细胞脆性极显著地高于高剂量饲料Vc处理组,生长速度也明显低于Vc高剂量组。随着饲料中Vc量的增加,实验鱼的体表光滑,色泽好,生长速度加快。对不同指标进行非线性回归分析,其生长速率、红细胞最小脆性等指标与饲料Vc量的相关系数大于0.7395,尤其是红细胞最小脆性与Vc量的相关系数高达0.9529,这为生产上发现异育银鲫常因饲料中缺乏Vc而易遭嗜水气单胞菌的侵袭呈现出出血症状找到了理论依据。血红蛋白质量浓度也随饲料Vc的增加而显著增加,但其与Vc量的相关性不大,其相关系数只有0.4537,这说明异育银鲫出血的主要原因是由于Vc缺乏使红细胞膜渗透性发生改变引起的。因此,血液生理指标,尤其是血细胞最小脆性能间接地反映饲料Vc的添加量。在生产上,尤其养殖名贵水产品时,在饲料中添加适量的Vc,可有效地抗感染,预防出血病的发生。

3.2 饲料Vc与异育银鲫抗氧化能力的关系

Vc为水溶性维生素,是血浆中有效的抗氧化剂,对脂质过氧化反应(LP)具有阻断作用,被称为细胞外液抗氧化防御体系的第一道防线,同时在细胞内也有清除氧自由基(OFR)和抗LP的作用^[9]。过氧化物酶(POD)是血浆中防御自由基毒害的关键酶类之一^[11],有研究表明,豚鼠体内尽管有其他抗氧化剂(包括POD),但如果Vc缺乏,其肝组织依然有渐进性丙二醛(MDA)的积累,补充Vc后MDA消失^[9]。本文分析了饲喂Vc添加饲料后异育银鲫POD活性的变化,发现随着饲料Vc量的提高,血浆POD活性也显著提高,从而降低了自由基对生物膜的毒害作用。这也证实了POD活性与异育银鲫饲料Vc含量呈正相关,可间接地反映饲料Vc的添加量。

3.3 异育银鲫饲料Vc的适宜添加量

研究鱼类对Vc的需要量,采用的评判标准不同,结果也不同。前人^[10]研究鱼类Vc需要量通常以生长速度、相关酶活性、肝脏饱和度及是否出现缺乏症作为评判标准。近年来,人们也开始用非特异

性免疫力作为更为科学的评判标准来确定饲料 Vc 的适宜含量。我们曾用生长与非特异性免疫力作为评判标准,得出异育银鲫饲料 Vc 的适宜添加量为 300 mg/kg。现用血液生理指标及生长速度对异育银鲫 Vc 适宜需要量进行综合评定,对不同指标进行非线性回归分析,发现这些指标与饲料 Vc 含量的相关系数均大于 0.739 5,尤其是血细胞最小脆性与其饲料 Vc 含量的相关系数高达 0.952 9,依据回归方程计算 Vc 适宜添加量分别为:231.17 (POD)、506.52 (最小脆性)、213.33 (生长速度) mg/kg。而当饲料中 Vc 质量比达到 600 mg/kg 时,生长速度不再加大,血红蛋白质量浓度反而降低,红细胞脆性也增大,这表明,饲料中必须添加一定量的 Vc,但添加量并非越多越好。因而,综合以上分析,我们建议生产上异育银鲫饲料 Vc 的适宜添加量为 300 ~ 500 mg/kg。

参考文献:

- [1] 陈国胜,蔡辉益. 维生素 C 在家禽应激中的作用研究进展[J]. 动物营养学报,1997,9(4):1-13.
- [2] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学[M]. 北京:中国农业出版社,1996.52-53,96-97.
- [3] Carr A C, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in human [J]. Am J Clin Nutr, 1999, 69(6):1086-1107.
- [4] Sealey W M, Gatlin D M. Dietary vitamin C requirement of hybrid striped bass *Morone chrysops* × *M. saxatilis* [J]. J World Aquac Soc., 1999, 30(3):297-301.
- [5] Aguirre P, Gatlin D M. Dietary vitamin C requirement of red drum *Sciaenops ocellatus* [J]. Aquac Nutr, 1999, 5(4):247-249.
- [6] 解景田,谢申玲. 生理学实验[M]. 北京:高等教育出版社,1987.59-61.
- [7] 施特尔马赫·B[德]. 酶的测定方法[M]. 北京:中国轻工出版社,1992.276-278.
- [8] Lim C, Klesius P H, Li M H, et al. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge [J]. Aquaculture, 2000, 185:313-327.
- [9] 张晓岚,姚希贤,刘永春,等. 大剂量 Vc 对肝硬化患者脂质过氧化损伤的保护作用[J]. 临床消化病杂志,2001,13(1):3-5.
- [10] Fournier V, Guillaour-Coustans M F, Kaushik S J. Hepatic ascorbic acid saturation is the most stringent response criterion for determining the vitamin C requirement of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. J Nutr, 2000, 130(3):617-620.

Physiological effects of dietary vitamin C on allogynetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* *Bloch* × *Cyprinus carpio* var. *singonensis*) and the optimal supplementation

SONG Xue-hong, CAI Chun-fang, ZHAO Lin-chuan, PAN Xin-fa, WU Kang, ZHANG Jian

(School of Agricultural Science and Technology, Sciences, Suzhou University, Suzhou 215006, China)

Abstract: The refined diets were added with Vc at a gradient of 0, 37.5, 75, 150, 300, 600 and 1 200 mg/kg diet. The allogynetic silver crucian carp, body weight 41 - 43 g, were cultured in a recirculation filtered water system and fed for 8 weeks at water temperature (25 ± 1) °C. The analyzed data show that the fish fed no-Vc diets do not show any symptom of Vc-deficiency, but the daily weight increment rate, hemoglobin level and serum peroxidase activity are all lower than those of the Vc-diet groups ($P < 0.01$), while the osmotic hemocytolysis is higher than that of the Vc-diets groups. With the increase of Vc in diets within 37.5 to 600 mg/kg, the fish grow better and better with the decrease of osmotic hemocytolysis and increase of hemoglobin content and POD activity significantly ($P < 0.05$) as evidenced from Duncan's LSR test. From the comprehensive results by non-linear regression analysis, the conclusion is that the maximum Vc level in diets are 300 - 500 mg/kg for allogynetic silver crucian carp.

Key words: allogynetic silver crucian carp; Vc; physiological effects; optimum supplementation